

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-092927

(43)Date of publication of application : 16.04.1993

(51)Int.Cl.

A61K 37/14  
A23K 1/16  
A23K 1/165  
A23K 1/18  
A61K 37/50  
// A61K 35/20  
C07K 15/06

(21)Application number : 03-137298

(71)Applicant : IMUNO JAPAN:KK

(22)Date of filing : 13.05.1991

(72)Inventor : ANDO KUNIO  
KISHIMOTO JUNICHI**(54) PREVENTIVE AND THERAPEUTIC AGENT FOR INFECTIOUS DISEASE WITH PATHOGENIC GERM ADDED TO FORMULA FEED FOR CULTURED AQUATIC ANIMAL****(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To obtain a preventive and therapeutic agent for infection with pathogenic germs for cultured aquatic animals capable of activating biophylactic mechanisms of the animals and preventing and treating infectious diseases with the pathogenic germs by adding the preventive and therapeutic agent to cultured aquatic animals, especially fishes or crustaceans.

**CONSTITUTION:** A preventive and therapeutic agent for infection of cultured aquatic animals with pathogenic germs is composed of an undenatured lactoferrin(LF), lactoperoxidase(LPO) or a mixture thereof, preferably the LF and LPO separated from milk of, e.g. a human, cattle, sheep, goat, horse, dog or cat. The above-mentioned agent in an amount of 0.0001-1.0wt.% based on a formula feed for cultured aquatic animals such as cultured fishes or crustaceans cultured in culture ponds is normally added thereto for use. Although the preventive and therapeutic agent exhibits excellent effects even by the above-mentioned ingredient alone, its effects are synergistically enhanced by its use with an antibiotic substance or a synthetic antimicrobial agent in combination and the agent is more effective. Furthermore, the LF and LPO having various iron saturation degrees ranging from holoproteins to apoproteins can be used.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination] 13.05.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3103615

[Date of registration] 25.08.2000

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

特許第3103615号  
(P3103615)

(45)発行日 平成12年10月30日(2000. 10. 30)

(24)登録日 平成12年 8 月25日(2000. 8. 25)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I
A 6 1 K 38/16		A 6 1 K 37/14
A 2 3 K 1/16	3 0 4	A 2 3 K 1/16
1/165		1/165
1/18	1 0 2	1/18
A 6 1 K 38/44		A 6 1 P 31/04
		1 7 1
請求項の数10(全 6 頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願平3-137298	(73)特許権者	391039391 株式会社イムノ・ジャパン 東京都杉並区荻窪4丁目28番14-701号
(22)出願日	平成3年5月13日(1991. 5. 13)	(72)発明者	安藤 邦雄 神奈川県川崎市高津区下作延1877
(65)公開番号	特開平5-92927	(72)発明者	岸本 純一 栃木県下都賀郡石橋町上大領329-43ス カイハイツ 85 3号
(43)公開日	平成5年4月16日(1993. 4. 16)	(74)代理人	100071010 弁理士 山崎 行造 (外2名)
審査請求日	平成10年5月13日(1998. 5. 13)	審査官	田村 聖子
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 養殖水生動物の配合飼料に添加される病原菌感染予防及び治療剤

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】 未変性のラクトフェリン、ラクトパーオキシダーゼ又はそれらの混合物から成り、養殖水生動物の配合飼料に添加される養殖水生動物の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項2】 前記ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼが、動物の乳汁から分離したラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼである、請求項1に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項3】 前記動物の乳汁が、ヒト、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ又はネコの乳汁である、請求項2に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項4】 前記ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼが、鉄イオンを飽和したホロタンパクから、鉄イオンを完全に除去したアポタンパクに至るまでの種々

2

の鉄飽和段階にあるラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼである、請求項1乃至請求項3のいずれか1請求項に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項5】 配合飼料が、養殖水生動物の病原菌に対し抗菌活性を有する抗生物質又は合成抗菌剤を含有している、請求項1乃至請求項4のいずれか1請求項に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項6】 配合飼料の重量に対し0.0001乃至1.0重量%の、前記未変性のラクトフェリン、ラクトパーオキシダーゼ又はそれらの混合物から成る、請求項1乃至5のいずれか1請求項に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項7】 前記養殖水生動物が、生簀又は養殖池で養殖されている魚類である、請求項1乃至6のいずれか1請求項に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項8】 前記魚類が、ウナギ、ブリ、マダイ、クロダイ、ヒラメ、ギンザケ又はニジマスである、請求項7に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項9】 前記養殖水生動物が、養殖池で養殖されている甲殻類である、請求項1乃至6のいずれか1請求項に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【請求項10】 前記甲殻類が、クルマエビ、ウシエビ又はテナガエビである、請求項9に記載の病原菌感染予防及び治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、養殖水生動物の配合飼料に添加される病原菌感染予防及び治療剤に関する。

【0002】

【従来技術】 近年、わが国では食生活の高級化、グルメ化にともない、クルマエビ、イセエビ、タラバガニ、ズワイガニ、ケガニなどの甲殻類及びマダイ、ヒラメなどの高級魚に対する需要が飛躍的に増大した。これらは、元来、個体数が少なく希少価値が高い水産資源である。しかも、乱獲によって生息密度が著しく減少していることに加え、資源ナショナルリズムの高まりにより、漁場に近い諸国は200海里を越え自国の影響が及ぶ水域に生息する水産資源に対しても所有権を主張して、他国がみだりに漁獲することを制限するようになり、量的な確保がますます困難になってきている。一方、これまでの漁業は自然界に生息する魚類を捕獲することで成り立っているため、自然条件により漁獲量が大きく変動し、経営的には不安定である。わが国で希少水産資源の確保及び経営の安定化などのために、天然の水産資源に依存する従来の漁業から、“つくる漁業”である養殖漁業への移行が行なわれたのは当然の成り行きだったと言えよう。

【0003】 わが国の養殖漁業はコイ、ウナギに始まり、ハマチ、ヒラメ、マダイなどの海水魚、アユ、イワナ、ニジマスなどの淡水魚、クルマエビ、カキ、ホタテ貝など甲殻類及び貝類のように古来わが国に生息していた漁業資源に加え、最近ではテラピア、ペレレイ、ピラニアなどのように海外産の水産資源までも養殖活用されるようになってきた。

【0004】 養殖漁業は新しい産業であるから、それに付きものの不合理性を持っている。すなわち、養殖の対象となる水産資源は、大部分が広い水中に生息しているので、生態研究が行き届いていないものが多い。水産資源の養殖では、対象となる動物にどのような餌を、どのくらい、いつ与えたら良いかという飼料効率の研究が非常に重要であるが、いまだに経験とカンに頼る部分が大きく、科学的な解明はほとんどなされていないと称しても過言ではない。それと並んで重要なことは、養殖の対象動物にどのような疾病があって、それを予防治療する方法は何かという研究である。特に、疾病の中でも病原菌感染症は、広大な自然界と異なり狭い水中に高密度で

飼育する養殖漁業の場合には、いったん、病原菌感染症が発生すると全滅するほどの致命的な被害を与えかねない。実際に、病原菌感染による養殖水生動物のへい死が養殖産業における最も深刻な問題である。とりわけ稚魚は病原菌の感染に対し感受性が高いので、飼育に当たって細心の注意が必要とされている。しかも、養殖漁業の場合には、ごく一部を除けば病原菌の感染症に対する的確な対策は発見されていない。従って、いったん病原菌の感染症が発生すると、治療と予防をかねて抗菌性物質、例えば、βラクタム系、テトラサイクリン系又はマクロライド系抗生物質を飼料に混合して与えるだけである。これらの抗菌性物質及び抗生物質は高価であり、又、養殖漁業において、感染予防及び治療のためのそれらの使用量は膨大である。養殖漁業は経済行為であるから、経済性を損なわない、病原菌感染症に対する予防及び治療法の開発は待望されていたのである。しかも、わが国では食品中への抗生物質残留は、食品衛生法により厳禁されているので、その使用に当たっては大きな制約を受けている。そのために、抗菌性物質を使った場合には、出荷前には一定の休薬期間をおかなければならない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは多年にわたり水産動物の病原菌感染症を研究した結果、養殖水生動物の病原菌感染症を有効に予防及び治療する手段を見出し、本発明を完成するにいたった。すなわち、あらゆる動植物はその種に固有の病原菌を持ち、生息環境には常に病原菌が存在するが、正常状態では感染を防ぐ機構を備えているために発症を免れていると考えられている。この感染を免れる身体の働きは、生体防御機構と呼ばれているが、免疫学の興隆にもかかわらず、生体防御機構の実体は必ずしも明確ではない。しかし、水生動物にも自らの体を病原菌の感染から守る生体防御機構が備わっていることについては、異論の余地がないものと考えられている。水生動物にも異物を鈍食する食細胞が、血中に存在することからである。生体防御機構の働きが低下したり、病原菌が多すぎて生体防御機構で処理しきれない場合、感染症が起こるものと考えられる。養殖漁業で、いったん病原菌が感染すると、急激に周囲に広がって大量の養殖動物が感染症に冒され、死亡するに至る。自然状態と比べて高密度で飼育される養殖漁業の場合には、環境悪化から生体防御能の低下をまねきやすく、飼育される水生動物は病原菌が感染し易い状態、易感染状態に陥っているものと考えられる。

【0006】 従って、養殖水生動物の感染症を予防及び治療するためには、抗菌性物質による病原菌の感染阻止と並んで、養殖条件下における生体防御能の正常状態維持、さらに正常状態より病原菌に対する抵抗力を亢進させるための何らかの措置が重要である。

【0007】

【課題を解決するための手段】 哺乳動物の乳汁中にごく

微量含まれる生理活性乳タンパク質、ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼは、哺乳動物の体内及び消化管内で生体防御能を正常に維持させる作用を担う生体防御因子の一つと考えられている。先に本発明者らは病原性細菌を接種して実験的感染症をおこしたマウスにラクトフェリンを経口投与すると、 $\beta$ ラクタム系抗生物質、テトラサイクリン系抗生物質及びマクロライド系抗生物質のような静菌性抗生物質の *in vivo* における抗菌活性を増強し、抗生物質がマウスを敗血症による死亡から救う半数有効量  $ED_{50}$  を有意に低下させることを見いだした。すなわち、ラクトフェリンは哺乳動物においては宿主依存的に生体防御能を強化し、生体内では抗菌活性物質と相乗作用を発揮して、非特異的に病原菌感染症を防御するはたらきがある。

【0008】本発明者らは哺乳動物とは分類学的にかけ離れており、病原菌感染に対して著しく感受性が高い、生簀又は養殖池で養殖されている養殖水生動物を使い、上記哺乳動物の生体防御因子、ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを単独、又は抗生物質と併用して飼料に混合して感染症予防及び治療効果を検討したところ、病原菌感染症を予防及び治療することにより有意に死亡率を低下させること、及び養殖の歩留りを向上させることにより収穫量が著しく増大することを見出し、本発明を完成するに至った。以下、発明の詳細を述べる。

【0009】下記の実施例で使用したラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼは、主として牛乳から分離したものであるが、それ以外にもヒト、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ由来のものもウシと同様に有効である。ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼは動物種を越えて普遍的に存在するタンパク質であり、その構造は互いによく類似している。又、それらの生理活性は同一であり、各動物種間で互換性があることが知られている。例えば、ヒト、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコの各乳汁から精製したラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼについてMDC K細胞（ラット正常腎細胞由来）などの正常細胞を用い、レセプターアッセイを行い、スクヤチャード解析により細胞膜上の受容体を解析したところ、種の違いによる受容体特性の差が認められないことが確認されている。

【0010】これらの乳タンパク質は、公知の方法により分離することができる。すなわち、未変性の哺乳動物乳汁を弱酸性イオン交換樹脂 ( $Na^+$  型) を充填したカラムを通過させ、ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを吸着させる。次にカラムを純水で洗浄した後、稀薄な食塩水を流下させて溶出する。溶出液を分取してタンパク質の紫外部吸収を測定し、タンパク質が溶出された分画を集める。このタンパク質溶液を分画分子量2万ダルトンの限外濾過膜で処理して、水、電解質及び低分子化合物を除去し、主として乳タンパク質からなる濃縮溶液を分離することができる。このようにして分離した

乳タンパク質混合物中におけるラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼの含有量は、通常、主要成分である前者が50-70重量%、後者が10-20重量%である。その他の乳成分としては、 $\alpha$ ラクトアルブミン、 $\beta$ ラクトグロブリン、ウシ血清アルブミンなどのタンパク質が含まれているが、ヘパリン-セファロースを充填したカラムクロマトグラフィーでラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを吸着させることにより両者を分離する。これらのタンパク質は塩基性であるからスルホン酸基を有するヘパリンに吸着する。次に、カラムを洗浄した後に食塩水の濃度勾配で溶出すると、両者が別々に分離して溶出される。両者が分離した溶出液は、限外濾過して電解質及び低分子化合物を除去してから凍結乾燥して粉末化する。

【0011】又、種々な担体によるカラムクロマトグラフィーを繰り返すことにより他のタンパク質を分離し、ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを精製することも公知である（特開昭61-145200号、特開昭61-246198号、特開昭62-19523号及び国際公開W0 89/04608号参照）。

【0012】しかし、哺乳動物乳汁は比較的高価であるから、これらの生理活性乳タンパク質を製造する原料としては適当でない。ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを分離精製するためには、最も普遍的な哺乳動物乳汁である牛乳を使うことが入手容易性の点でかっているが、牛乳からチーズ、バター及びその他の乳成分を分離した際に生ずる副産物、乳清あるいは脱脂乳などが原料として好適である。ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを含む酪農副産物のなかでも大量に副生するのは、牛乳からチーズを生産する際の副生物、チーズホエイである。従って、チーズホエイはラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを効率よく生産するために最も適した原料である。哺乳動物乳汁からラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを分離した方法と同様に、適当な吸着剤と溶出条件を選び、カラムクロマトグラフィーによって両者を他の乳成分から分離することができる。すなわち、pH中性付近でホエイを弱酸性イオン交換樹脂 ( $Na^+$  型) カラムに流下させると、ホエイ中のラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼはイオン交換樹脂に吸着される。イオン交換樹脂がこれらのタンパク質で飽和された後、カラムを純水で洗浄してから希薄な食塩水で吸着されたタンパク質を溶出する。溶出液は分取してタンパク質の紫外部吸収を測定し、タンパク質が溶出された分画を集める。このタンパク質溶液を分画分子量2万ダルトンの限外濾過膜で処理して、水、電解質並びに低分子化合物を除去し、濃縮化されたタンパク質溶液を凍結乾燥して粉末化する。このようにして調製したタンパク質粉末の平均的な組成は、ラクトフェリン60-75重量%、ラクトパーオキシダーゼ10-15重量%である。次にヘパリン-セファロースを充填したカラム

を用い、ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼをスルホン酸基を有するヘパリンに吸着させ、カラムを洗浄した後に食塩水の濃度勾配で溶出すると、両者が分離して溶出される。両者が分離した溶出液は、限外濾過して電解質及び低分子化合物を除去してから凍結乾燥して粉末化する。

【0013】又、脱脂乳からカゼインを生産する際に副生する酸ホエイもチーズホエイと同様に好適に使用できる。

【0014】生体内に存在するラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼは鉄を含有するタンパク質であり、両者の鉄飽和度は20-30%である。精製したラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼはpH3.0以下に調整することにより、鉄イオンを失ったアポラクトフェリン及びアポラクトパーオキシダーゼのアポタンパクになる。又、アポタンパクでも、20-30%鉄飽和ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼでも、炭酸塩の存在下で計算量の3価鉄イオン（ラクトフェリン）又は2価鉄イオン（ラクトパーオキシダーゼ）を添加すると、鉄イオンを飽和した、ホロラクトフェリン及びホロラクトパーオキシダーゼのホロタンパクまでの種々の鉄飽和度を有するラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼを調製す

表1 養殖水生動物の生存率に及ぼすラクトフェリンの効果

動物種	対照飼料		ラクトフェリン含有飼料	
	生存率(%)	収量(Kg)	生存率(%)	収量(Kg)
ブリ	55.3	133.5	95.9*	277.8
マダイ	43.8	107.1	87.0*	246.8
ヒラメ	47.2	566.4	82.8*	1152.6
ウナギ	25.6	87.5	77.4*	317.4
クルマエビ	25.6	22.5	97.4*	85.6

\* X<sup>2</sup> 検定において P<0.01

【0017】表1から明らかなようにラクトフェリンは単独で飼料に添加して養殖魚類に摂取させても、養殖における歩留りを著しく向上させると同時に、収穫量も対照区と比べると常に増加させるはたらきがある。

【0018】表2にラクトフェリン、ラクトパーオキシ

表2 養殖水生動物の生存率及び収量に及ぼすラクトフェリン(LF)及びラクトパーオキシダーゼ(LP0)の効果

動物種	生存率(%)		
	対照飼料	LF + LP0混合飼料	LP0混合飼料
ブリ	67.8	88.3	85.3
マダイ	75.4	90.0	91.6
クルマエビ	39.4	82.9	70.0

LF + LP0 混合飼料： 対照飼料にLF、0.013 重量% + LP0、0.033 重量%添加

LP0混合飼料： 対照飼料にLP0、0.015 重量%添加

【0020】本発明におけるラクトフェリン、ラクトパーオキシダーゼ及び両者の混合物は、人工配合飼料並びに養殖現場で調製される配合飼料に添加することができる。例えば、養魚用の人工飼料としては、魚粉、カゼイ

ることができる。それらの種々の鉄飽和度を有するラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼは本発明の病原菌感染予防及び治療剤として有効に用いられる。

【0015】分離・精製したラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼは単独であっても、混合物であっても、in vitroで抗菌活性を検定する限りでは、1,000 µg/mlの高濃度でも病原菌の生育を阻止しない。しかし、ラクトフェリンを混合した各魚種用の配合飼料を用いて、生簀又は養殖池で養殖中のウナギ、ブリ、マダイ、クロダイ、ヒラメ、ギンザケ、ニジマス、クルマエビ、ウシエビ及びテナガエビなどを飼育した場合、生存率及び収量に顕著な効果を示す。表1に養殖動物に出荷前の2カ月間、本発明の病原菌感染予防及び治療剤を添加した飼料を与えた場合の生存率及び収量を示す。これら水生動物の試験区は、なるべく環境条件が同一になるように設定し、対照区には通常飼料を与え、ラクトフェリン投与区は対照区と同様の通常飼料にラクトフェリンを0.03重量%混合して与えた。表1から明らかなようにラクトフェリン添加は、生存率を著しく高め、収量を有意に増大させる作用を示す。

【0016】

ダーゼ混合物及びラクトパーオキシダーゼを単独添加した飼料でブリ、マダイ、クルマエビを出荷前2カ月間飼育し、生存率に及ぼす影響を検討した成績を表2に示す。

【0019】

ン、イカミール、粉末乳清、その他の動物性原料、大豆粕、小麦粉、α澱粉、乾燥酵母、その他の植物性原料、動物性油脂、植物性油脂、ビタミン類、ミネラル類及び抗酸化剤などの原料に混合した後、少量の水と一緒に十分に練合してから押し出し造粒機にかけ、低温で乾燥して顆粒化することができる。高温による乾燥を避ける理由は、ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼの加

熱変性を防止するためである。

【0021】又、現在、養殖水生動物に病原菌感染症の予防及び治療のために用いられている抗生物質又は抗菌性物質を含有した配合飼料に本発明の病原菌感染予防及び治療剤を添加したものを養殖水生動物に与えると、抗生物質又は抗菌性物質と相乗的に作用して、抗生物質又は抗菌性物質単独で与えたときに比べ、著しい効果を示すことが見出された。

【0022】本発明の病原菌感染予防及び治療剤は通常、配合飼料の重量に対して、0.0001乃至1.0重量を配合飼料に添加して用いられ、優れた効果を現わす。以下に、実施例により本発明を詳細に示す。

【0023】参考例 配合飼料ペレットの製造  
イカミール30重量%、オキアミ粉末20重量%、魚粉15重量%、乾燥酵母10重量%、小麦グルテン10重量%、小麦粉5重量%、ミネラル混合物5重量%、ビタミン混合物

表3 生簀飼育ブリの累積死尾数

試験区	累積死尾数	死尾率(%)
対照区	453	75.5
ラクトフェリン0.01重量%添加区	121*	20.2
ラクトフェリン0.03重量%添加区	87*	14.5

\*  $X^2$  検定において  $P<0.01$

【0026】表3に示されるように対照区では類結節症による死尾数が75%を越えているのに対し、同一飼料にラクトフェリン0.01重量%を添加した試験区及び0.03%を添加した試験区では死尾数が用量依存的に減少していることがわかる。

#### 【0027】実施例2

養殖生簀に飼育中のブリに感染する連鎖球菌症に対するラクトフェリンの効果を検討した。連鎖球菌症が多発する養魚場に縦横 1.4m、水深 1.5mの生簀3個をもうけ、それぞれに 300尾のブリを収容し、ブリ用ドライペ

表4 生簀飼育ブリの累積死尾数

試験区	累積死尾数	死尾率(%)
対照区	165	55
エリスロマイシン0.3重量%添加区	89**	30
エリスロマイシン0.3重量%、LF 0.03重量%添加区	33**	11

\*\*  $X^2$  検定において  $P<0.01$

【0029】表4に示されるように対照区では連鎖球菌症による死尾率が55%であるのに対し、同一飼料にエリスロマイシンを 0.3重量%添加した試験区では、死尾率が30%に減少した。一方、エリスロマイシン 0.3重量%にラクトフェリン0.03重量%を併用した試験区3では死尾率は、さらに11%まで減少し、試験区2と試験区3の差は、統計的に高度に有意であった。従って、ラクトフェリンはエリスロマイシンと相乗的に作用して、ブリの連鎖球菌症を予防することがわかる。

表5 クルマエビの収量に及ぼすラクトフェリンの効果

試験区	生存頭数/m <sup>2</sup>	収量 (kg/m <sup>2</sup> )
対照区	4.68	0.455

5重量%からなる粉末100kgに、純度85重量%のラクトフェリン粉末を1重量%含有する乳清蛋白を1Kg添加し、十分に混合した。この粉末に少量の水を加えて練合し、エクストルーダーにかけて、直径3mm、長さ 15-20mmの円柱状ペレットに成形し実用に供した。

#### 【0024】実施例1

養殖生簀に飼育中のブリに感染する類結節症に対するラクトフェリンの効果を検討した。例年、類結節症が多発する養魚場に縦横 1.4m、水深 1.5mの生簀3個をもうけ、それぞれに600尾のブリを収容し、牛乳由来未変性ラクトフェリンを0.01重量%及び0.03重量%混合した参考例の配合飼料を与えて昭和63年6月1日から7月31日までの2カ月間飼育した。この間、毎日、生簀ごとの類結節症によるへい死尾数を調査し、累積死尾数として表3に示した。

#### 【0025】

累積死尾数 死尾率(%)

453	75.5
121*	20.2
87*	14.5

レット飼料を与えて昭和63年6月11日から7月30日までの50日間飼育した。試験区1は対照飼料で飼育した群とし、試験区2は試験区1と同一のブリ用ドライペレットにエリスロマイシンを 0.3重量%添加し、試験区3には試験区1と同一のブリ用ドライペレットにエリスロマイシン 0.3重量%及び牛乳由来未変性ラクトフェリン(LF) 0.03重量%を添加して与えた。毎日、生簀ごとの連鎖球菌症によるへい死尾数を調査し、累積死尾数として表4に示した。

#### 【0028】

#### 【0030】実施例3

広さ約 500m<sup>2</sup> の塩田跡に海水を導入して造成した養殖池をナイロン・ネットで均等に仕切り、それぞれクルマエビ用の試験区とした。4月10日に体長約4cmの稚エビをm<sup>2</sup> 当り20匹づつ放養し、一方の池は対照区として配合飼料を与え、他方は対照区と同じ配合飼料に牛乳由来未変性ラクトフェリンを0.01重量%添加して与えた。6カ月後に養殖を打ち切り、生き残ったエビの頭数と収量を測定した。

#### 【0031】

## ラクトフェリン添加区

\*  $\chi^2$  検定において  $P<0.01$

【0032】表5に示されるように、ラクトフェリン添加により単位面積当たりの生存頭数は3.7倍、収量は3.4倍に上昇し、ラクトフェリン添加のへい死予防効果は明らかである。

## 【0033】実施例4

ウナギ用粉末配合飼料に牛乳由来未変性ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼ混合物（ラクトフェリン60重量%、ラクトパーオキシダーゼ15重量%、残りの25重量%は他の乳タンパク質）を0.03重量%混合し、水を加

表6 ウナギ養殖の歩留り及び体重に及ぼすラクトフェリン+ラクトパーオキシダーゼの効果

	対照区
歩留(%)	93.8
体重(g)	157 ± 8.2
総重量(kg)	147.3

\* スチューデントのt-検定において  $P<0.01$

\*\*  $\chi^2$  検定において  $P<0.01$

## 【0036】

【発明の効果】上記実施例で示されるように、本発明は、飼料に未変性のラクトフェリン又はラクトパーオキシダーゼ、あるいはその両者を飼料に添加することにより、魚類及び甲殻類の生体防御機構を賦活し、養殖水生動物の病原菌感染症を予防治療する手段を提供すること

17.30\*

1.56

えて練り餌機にかけて練り餌を調製した。対照餌としては上記と同一のウナギ用粉末配合飼料を練り餌として与えた。

【0034】ウナギ飼育は、対照区と試験区とも同一容積の水温29-31℃の水槽を用い、平均体重105gのウナギを各1,000匹づつ収容し、飼育は日間給餌率は0.7-2.0%の範囲で40日間行った。結果は表6に示すとおりである。

## 10 【0035】

によって、養殖漁業の発展に寄与することができる。ラクトフェリン及びラクトパーオキシダーゼ、又は両者の混合物は、それ自身でも養殖水生動物の病原菌感染症を予防治療することができるが、抗菌活性物質、例えばβラクタム系抗生物質、テトラサイクリン系抗生物質が共存すると、これらの抗菌活性物質の効果が相乗的に増強されるので、病原菌感染症の予防治療にとっていっそう効果的である。

20

フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

A61P 31/04

識別記号

171

F I

A61K 37/50

(56) 参考文献

特開 昭61-83131 (J P, A)  
 特開 平3-220130 (J P, A)  
 特開 平2-48534 (J P, A)  
 特開 昭60-227641 (J P, A)  
 特開 昭59-63147 (J P, A)  
 特公 昭46-39046 (J P, B1)  
 特公 昭47-20955 (J P, B1)

(58) 調査した分野(Int. Cl.<sup>7</sup>, DB名)

A61K 38/00 - 38/58  
 A23K 1/00 - 1/175  
 A23K 1/20 - 3/04  
 C A (S T N)  
 M E D L I N E (S T N)